

Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

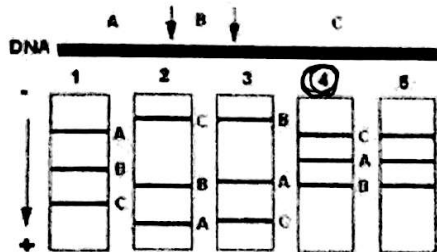


BIOLOGIE MOLECULAIRE

(SV5 - M32 - Examen session normale 2016)

Durée de l'épreuve : 1h30

A- La digestion d'un DNA par une enzyme de restriction a permis l'obtention de 3 fragments A, B et C de tailles différentes (voir figure). Séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 1,5%, le profile attendu correspondra à :



⇒

a) Profile 1. b) Profile 2. c) Profile 3. (d) Profile 4. e) Profile 5 ?

B- Près du gène codant pour l'Hypoxanthine PhosphoRibosyl Transférase (HPRT) existe un polymorphisme des sites BamHI qui peut être révélé par la sonde DX10 représenté sur la figure ci-dessous.

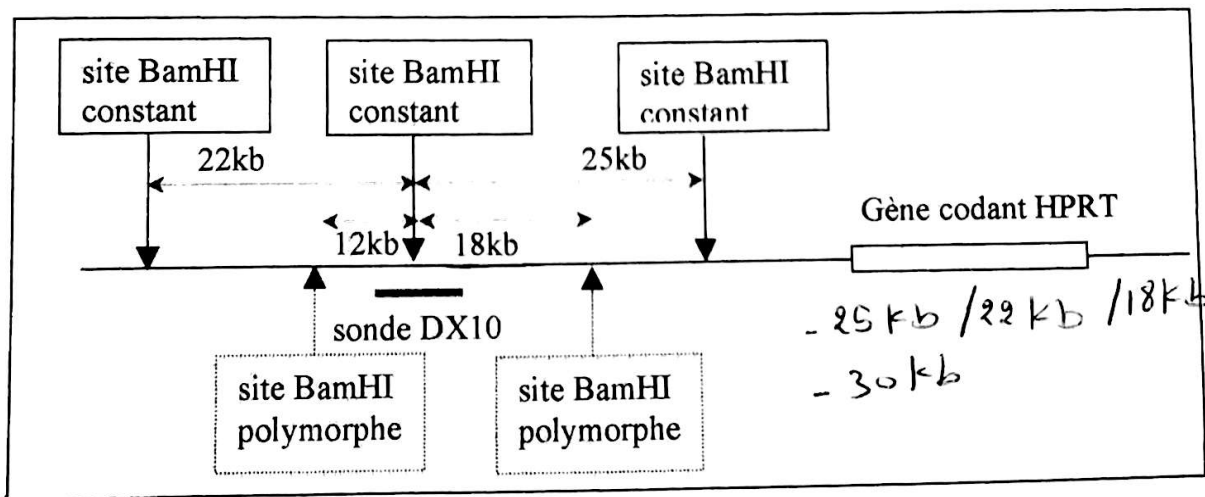


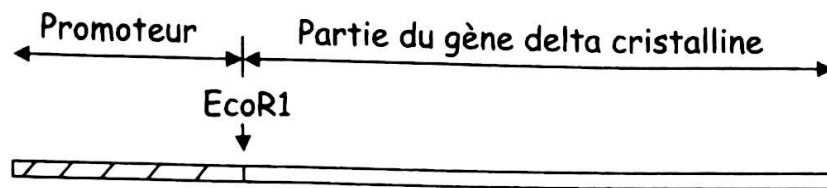
Figure : Carte de la région du chromosome X portant le gène codant pour l'HPRT et la zone voisine où est localisé le polymorphisme des sites BamHI

Pour un chromosome X donné, quelles bandes peut révéler la sonde DX10 pour l'ADN normal, chacun des mutants de site polymorphe BamHI et le double mutant?

C- Grâce à la recombinaison génétique in vitro on a pu obtenir un fragment de DNA (appelé fragment X) composé d'une partie du gène codant pour la protéine

delta cristalline de poulet et du promoteur d'un gène tRNA bactérien reconnu par la RNA polymérase procaryote (Figure 1). On se propose d'utiliser ce fragment X comme modèle afin d'étudier la transcription et l'épissage in vitro du RNA delta cristalline.

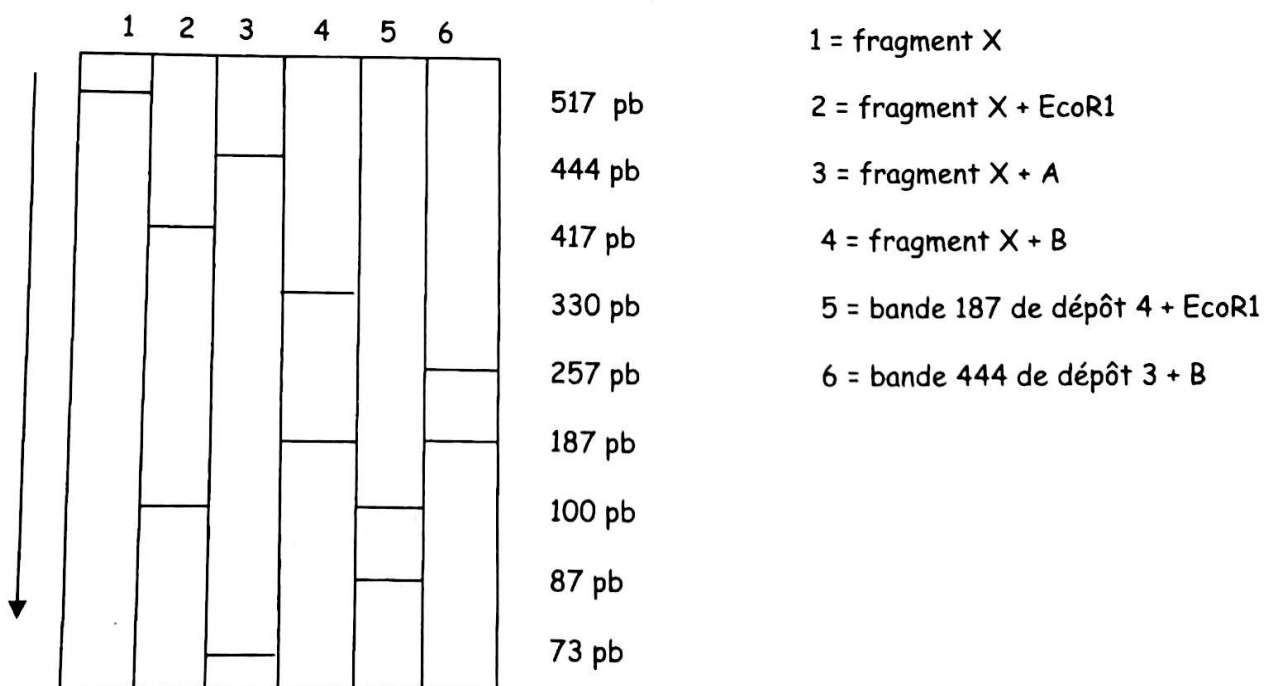
Figure 1 :



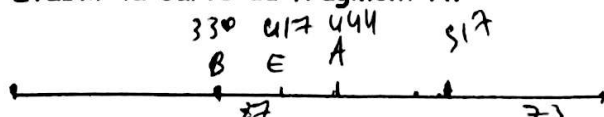
Pour ce faire, les expériences suivantes ont été réalisées :

- 1- La carte de restriction du fragment X a été déterminée pour deux enzymes de restriction A et B. Le fragment X est traité par l'enzyme A ou B dans des conditions adéquates d'incubation et les produits de digestion obtenus ont été analysés par électrophorèse sur gel d'agarose (Figure 2).

Figure 2 :



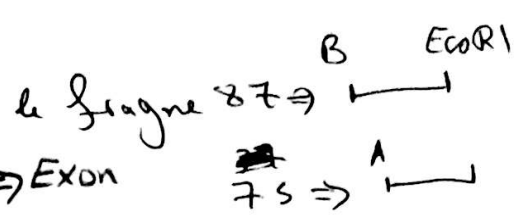
- Etablir la carte du fragment X.



- 2- Les ARNm codant pour la protéine delta cristalline ont été isolés des cellules de poulet en culture. Ces ARNm ont été hybridés avec le fragment X dénaturé et l'hybride obtenu est soumis à l'action de la nucléase S1. Deux fragments de DNA de 87 et 73 pb résistent à ce traitement.

2 ⇒ sont des Exon

- A quoi correspond les deux fragments ? $\Rightarrow$ Exon



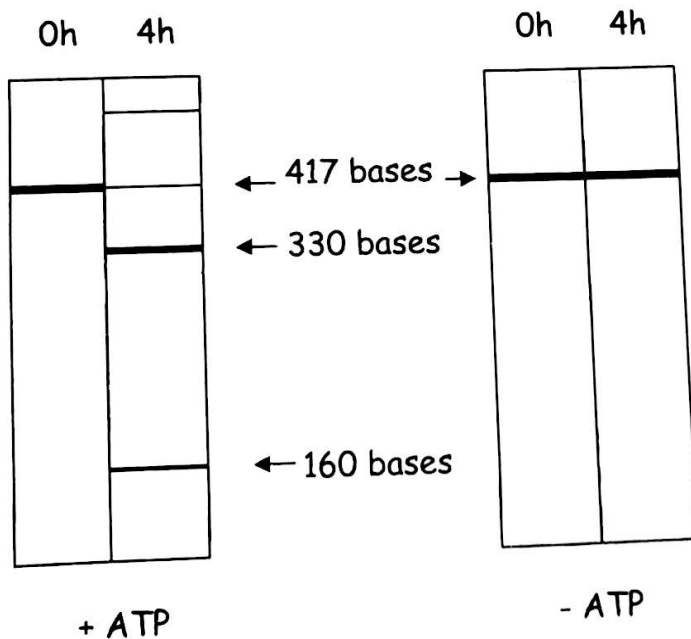
3- Le fragment X est incubé in vitro en présence de la RNA polymérase bactérienne et des 4 dNTP dont le dGTP est marqué en α au ^{32}P . L'analyse par électrophorèse sur gel de polyacrylamide des ARN synthétisés montre la présence d'une seule bande de longueur de 417 bases.

- Que pouvez-vous conclure ?

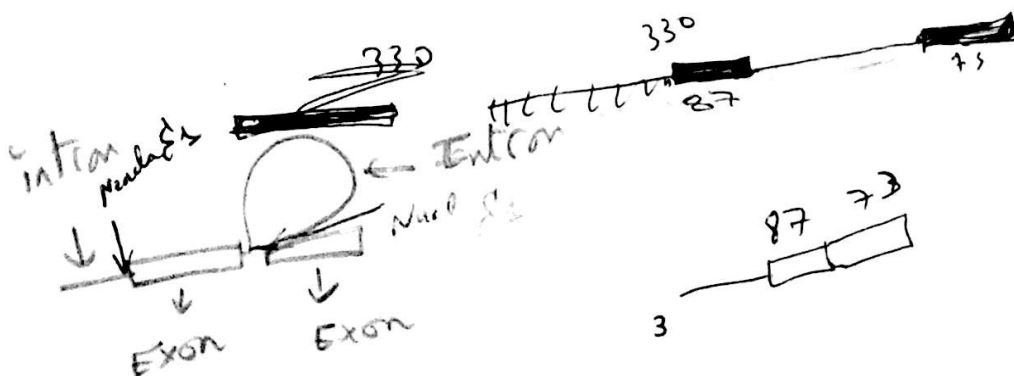
4- La bande 417 a été découpée du gel et les ARN radioactifs sont élués de l'acrylamide.

Les ARN ainsi récupérés pendant 4 heures dans un extrait nucléaire de cellules de poulet en présence (tube 1) et en absence (tube 2) de l'ATP. Des aliquots sont prélevés de chacun des tubes et les ARN extraits au phénol de chacun des prélèvements sont analysés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (Figure 3).

Figure 3 :



- A quoi correspond chacune des bandes observées au niveau de la figure 3.
- Proposer un modèle expliquant l'épissage de l'ARN de la delta cristalline in vitro.



Nom/Prénom : Ta. My Best friends N° d'Examen :

MODULE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE
EXAMEN DE TP
SESSION NORMALE, AUTOMNE 2015/2016
(Durée 30min)

Dans le laboratoire de biologie moléculaire on se propose d'analyser le profil de migration d'un ADN plasmidique coupe (ou non) par une endonucléase, dont le site de restriction se trouve dans la région du plasmide contenant le polylinker (ou MCS : Multiple Cloning Site).

A cette fin, deux tubes Eppendorf distincts ont été préparés ; chacun contenant un mélange réactionnel de 10 μ l, composé comme suit :

Tube 1 : 1 μ g d'ADN; 5 unités d'enzyme de restriction; 1 μ l de tampon de l'enzyme 10x ; compléter à 10 μ l avec de l'eau double distillée.

Tube 2 : 1 μ g d'ADN; 1 μ l de tampon de l'enzyme 10x; compléter à 10 μ l avec de l'eau double distillée.

Les tubes contenant les mélanges réactionnels ont été incubés dans un bain-marie à 37°C, pendant une heure. A la fin de l'incubation, on rajoute dans chaque tube 10 μ l d'une solution (S), dont la composition est la suivante : TAE 1x ; Glycerol 40% ; Bleu de Bromophénol.

Simultanément, un gel d'Agarose (1%) contenant 5 μ l de Bromure d'Éthidium a été préparé par fusion/solidification dans un tampon TEA (1x). Dix microlitres du mélange final ont été déposés (en double) dans les puits formés dans le gel. Ensuite, le gel a été soumis à un champ électrique de 80V, pendant 30 min, dans un tampon de migration (TEA 1x).

Le résultat obtenu est présenté dans la Figure 1.

Questions :

A. Donner le nom de la technique utilisée dans cette expérience et préciser son rôle. (2pts)

Électrophorèse sur gel d'Agarose $\rightarrow$ Séparation de l'ADN ou ARN
Séparation de l'ADN en fonction de sa charge en fonction de leur PM.

B. Donner le nom de la solution (S), et préciser le rôle du Glycérol et du Bleu de bromophénol. (3pts)

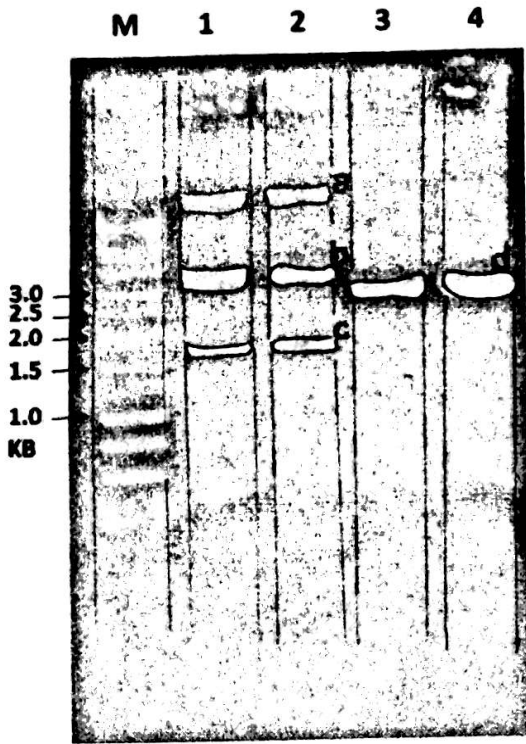
S :

Glycérol : pour condenser l'ADN

Bleu de bromophénol : c'est un colorant pour visualisation

C. Quel est le rôle du Bromure d'éthidium qui a été rajouté dans le gel ? (1pt)

intercalaire entre les bases et donner une fluorescence "révélation"



Titre : *analyse de megaplasmide*
~~de ADN~~

titre $\Rightarrow$ Electrophorèse sur gel d'agarose

Figure 1

D. Légender la Figure 1. (7pts)

M : ~~Marqueurs~~ Marqueurs de poids Moléculaires

1 et 2 : Plasmides hydrolysés par l'Enz EcoRI

3 et 4 : ~~Plasmides~~ Plasmides à l'état natif

(a) : ~~forme relaxée~~ Forme circulaire relaxée

(b) : ~~forme relaxée~~ Forme linéaire

(c) : ~~forme relaxée~~ Forme circulaire superenroulée

(d) : ~~forme relaxée~~ Plasmide à l'état natif "non hydrolysé"

E. Donner un titre à la Figure 1. (3pts)

F. Quel est le nombre de site(s) de restriction sur le plasmide ? (2pts)

3 site

G. Estimer le poids moléculaire du plasmide. (2pts)

3.0 kb

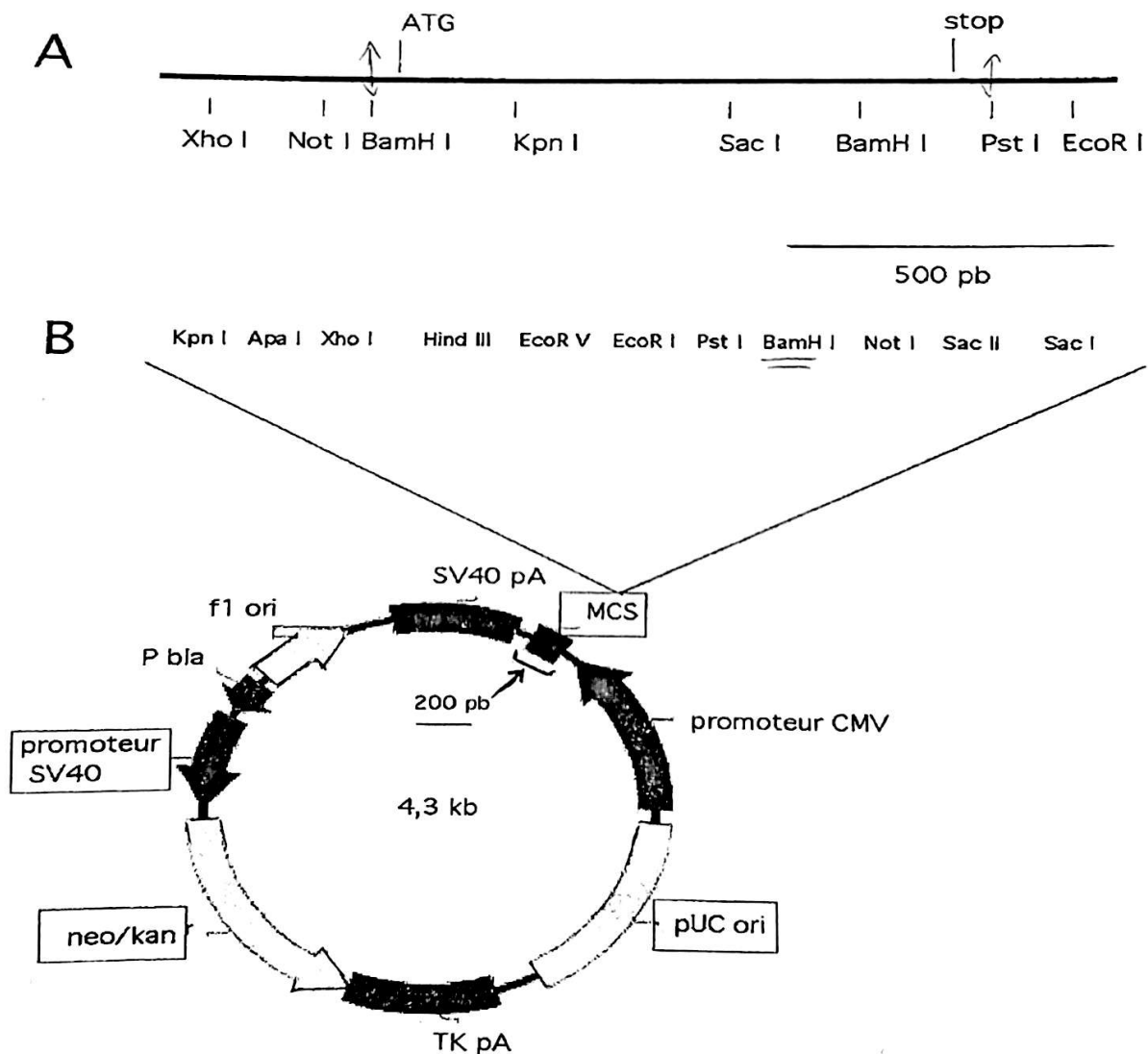
BIOLOGIE MOLECULAIRE

(SV5 - M32 - Examen session de rattrapage 2016)

Durée de l'épreuve : 1h30

A- Vous amplifiez, par RT-PCR de transcrits poly(A)+, un ADNc dont la structure est schématisée en Figure 1A. Afin de produire la protéine correspondante dans des cellules eucaryotes, vous devez effectuer un sous-clonage dans le vecteur présenté en Figure 1B.

Figure 1



Q1- Quels sont les rôles des éléments Kanamycine et promoteur cytomégalo virus (CMV) du vecteur en Fig. 1B ? *Question de cours*

Q2- Quelles digestions effectuez-vous sur le produit de PCR et sur le vecteur pour pratiquer votre clonage?

Vous transformez ensuite *E.coli* avec $1/10$ du produit d'une ligation assemblée avec 100 ng de vecteur digéré et purifié sur gel d'agarose, en présence de 25 ng du produit de digestion de l'ADNc.

Vous réalisez également des réactions « témoin » comportant la même quantité de vecteur, ainsi que d'autres vérifications. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant.

Numéro de la transformation	Produit utilisé	Nombre de colonies obtenues sur milieu LB+kan
1	Ligation complète	220
2	Témoin en absence de ligase	2
3	Ligation en absence d'insert	200
4	Vecteur seul non digéré (0,1 ng)	1000
5	Cellules compétentes seules	0

LB+Kan = Milieu de culture luria-bertani + Kanamycine

5 → pour avoir est ce qu'il y a d'autre ADN étranger

Q3- Quels sont les rôles respectifs des témoins de 2 à 5 ?

2 -

L'analyse par PCR de 30 colonies obtenues dans la transformation 1, effectués à l'aide d'amorces placées de part et d'autre du site de clonage multiple (MCS), donne les résultats suivants : 3 colonies génèrent un produit d'environ 1500 pb
27 colonies génèrent un produit d'environ 200 pb.

Q4- Quel pourcentage de ces 30 colonies contient l'insert ?

Q5- Suite à la question 2, Comment pourriez vous exprimer la protéine de votre ADNc cloné ?

B- Donnez la définition de PCR. Présentez le principe et les différentes étapes de cette technique ? ⇒ Il faut faire un dessin pour chaque étape
Parmi les amorces disponibles, lesquelles allez-vous choisir pour amplifier le fragment ci-dessous :

5' ATGAAGCTCTTGGGATTCTGTAGTGTGTCGTGCCATCTTTGAATTTGGACCTCTCGATCTCGATCGCTGA3'

Amorces disponibles :

Réponses juste : Les sources sont $\Rightarrow$ F et D "E $\Rightarrow$ Non"

A : 5'tacttcgagaaccctaag 3'

B : 5'ctcgatctcgatcgctga 3'

C : 5'agtcgctagctctagctc 3'

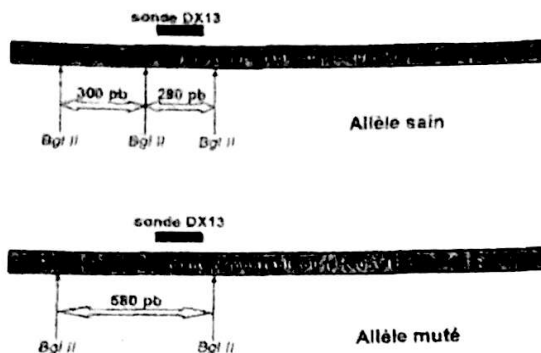
D : 5'tcagcgatcgagatcgag 3'

(E : 5'gaatcccaagagcttcat 3'
CTTASGCTTCTCAAGTA

F : 5'atgaagctcttgggattc 3'

C- L'hémophilie A est une maladie héréditaire due à une anomalie d'un facteur de coagulation du sang, le facteur VIII. Le gène du facteur VIII est porté sur le chromosome X. Madame X, dont le frère est hémophile, est enceinte et fait pratiquer, sur avis médical, un diagnostic prénatal à six semaines de grossesse.

L'emplacement des sites de restriction de l'enzyme *Bgl* II et du site d'hybridation de la sonde DX 13



La sonde DX13 s'hybride avec une séquence complémentaire à l'intérieur du gène responsable du facteur VIII. Les scientifiques considèrent qu'elle caractérise la mutation de ce gène.

Analyses génétiques des membres de la famille de Mme X (pb : paire de bases).

	Mme X	II 3	II 4	Embryon
580 pb	—	—		—
280 pb	—		—	

Réponse juste : X^+Y pour Homme 4
 X^-Y pour Homme 3
 X^-Y pour Embryon
 X^-X^+ pour Madame
 Avec : (-) $\Rightarrow$ Malad
 (+) $\Rightarrow$ non Malad

L'analyse du caryotype de l'embryon porté par Mme X indique qu'il a pour formule chromosomique : 46 chromosomes dont XY. On réalise l'analyse de l'ADN de Mme X, de l'embryon et des hommes II 3 et II 4 en utilisant la technique du Southern blot. L'ADN du génome est digéré en utilisant l'enzyme de restriction *Bgl* II. Les fragments de restriction sont séparés par électrophorèse puis dénaturés. La sonde radioactive DX13 est utilisée. Une autoradiographie est réalisée.

A partir de ces résultats, indiquez les génotypes de Mme X, de l'embryon et des individus II 3 et II 4.